Aus der Kgl. Universitäts-Kinderklinik in München.
Vorstand: Professor M. v. PFAUNDLER.

Ueber Anaphylatoxine.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Luise Wahl,
Medizinalpraktikantin aus Kaufbeuren.

München 1910.
Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Aus der Kgl. Universitäts-Kinderklinik in München.
Vorstand: Professor M. v. PFAUNDLER.

Ueber Anaphylatoxine.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

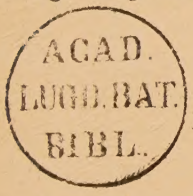
gesamten Medizin

verfasst und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Luise Wahl,
Medizinalpraktikantin aus Kaufbeuren.

München 1910.
Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent:

Herr Geheimer Rat Professor Dr. J. von Bauer.

Jener Symptomenkomplex, der bei Menschen nach und infolge von Serumeinspritzungen in Erscheinung tritt, wurde von v. Pirquet und Schick mit dem Namen der „Serumkrankheit“ bezeichnet. Er gehört zu den beststudierten Krankheitstypen der menschlichen Pathologie. Wesentlich erleichtert wurde das Studium der Serumerscheinungen dadurch, dass man in der Lage war, das Krankheitsbild im Tierversuch weitgehend nachzuahmen.

Injiziert man einem Menschen zum ersten Male subkutan Serum, so bemerkt man zunächst gar nichts. Erst nach 10—14 Tagen treten in einer Reihe von Fällen gut charakterisierte Krankheitserscheinungen zutage. Das symptomlose Zeitintervall, das von der Einspritzung bis zum Ausbruch der Krankheit verstreicht, ist gleichbedeutend mit der Inkubation. Die Inkubation der Serumkrankheit nach der Erstinjektion beträgt demnach 10 bis 14 Tage; die auffälligsten Symptome sind das Fieber und das Exanthem. Manchmal ist diese Krankheit in 1—2 Tagen beendet, zumeist dauert sie mehrere hindurch. Reinjiziert man das gleiche Serum nach 10—12 Tagen — frühestens nach 10 Tagen —, so sieht man gar

nicht selten schwere Erscheinungen, die in einzelnen Fällen einen bedrohlichen Charakter annehmen können. Der Mensch ist durch die einmalige Seruminjektion gegen das betreffende Serum überempfindlich oder anaphylaktisch geworden. Nicht immer ist diese Ueberempfindlichkeit stark ausgesprochen, obligat ist einzig und allein der Umstand, dass die Krankheitserscheinungen sofort auftreten, dass also die Inkubation in diesem Falle wegfällt.

V. Pirquet und Schick legten diesem Verhalten folgende Erklärung zugrunde: Das artfremde Serum regt im menschlichen Organismus zur Bildung von Antikörpern an. Diese treten am 10.—14. Tage in wirksamer Form ins Blut und reagieren hier mit den Resten des noch nicht völlig ausgeschiedenen Serums. Das Zusammentreffen des Serums mit den Antikörpern führt zur Bildung einer toxischen Substanz. Diese toxische Substanz ist die Ursache der Serumkrankheit.

Reinjiziert man nach kurzem Intervall zum zweiten Male das gleiche Serum, so sind im Organismus noch freie, gegen das betreffende Serum gebildete Antikörper vorhanden — der sofortigen Reaktion steht nichts im Wege, ihr sofortiger Eintritt ist nach dem Gesagten vielmehr zu erwarten.

Mit dem Studium der Serumerscheinungen am Versuchstier beschäftigte sich eine ganze Reihe von Autoren. Auffallend ist, dass weder beim Kaninchen noch beim Meerschwein-

chen nach der erstmaligen Injektion sinnfällige Krankheitssymptome auftreten und dass — beim Meerschweinchen wenigstens — die Erscheinungen nach der Reinjektion viel stürmischer und schwerer sind als beim Menschen. Unter gewissen Versuchsbedingungen kann man sogar nach der Reinjektion gesetzmässig den akuten Vergiftungstod bei Meerschweinchen erzielen. Diese Abweichung der Tierversuche von dem am Menschen beobachteten Verhalten ist jedoch durchaus nicht prinzipieller Natur. Das Ausbleiben der Krankheitserscheinungen nach der Erstinjektion ist möglicherweise überhaupt nur ein scheinbares und darauf zurückzuführen, dass man sich mit der feineren Analyse der Reaktionserscheinungen nach der Erstinjektion im Tierversuch noch nicht eingehend genug beschäftigt hat. Im übrigen ist es denkbar, dass die Minimalserummengen, deren man sich bei der Erstinjektion im Tierversuch bedient, viel rascher ausgeschieden werden als beim Menschen, wo man beträchtlich grössere Mengen (meist das 500—1000fache) einspritzt. Es ist anzunehmen, dass unter diesen Verhältnissen beim Versuchstier die letzten Serumreste bereits zu einer Zeit den Organismus verlassen haben, bevor die Antikörper in wirksamer Form ins Blut eingetreten waren.

Und was den Vergiftungstod nach der Reinjektion, den sog. anaphylaktischen Shok der Versuchstiere anbetrifft, muss man im Ange behalten, dass dieser nur unter ganz bestimm-

ten Versuchsbedingungen (intravenöse Reinjektion) eintritt. Im übrigen handelt es sich um eine besonders hohe natürliche Empfindlichkeit der Meerschweinchen gegenüber dem giftigen Reaktionsprodukt, weshalb eben gerade diese Tierart zu den anaphylaktischen Versuchen mit Vorliebe und fast ausschliesslich herangezogen wurde.

Der Hauptsache nach stehen aber die Serumerscheinungen beim Menschen nach der Erst- und nach der Reinjektion und das anaphylaktische Phänomen bei Meerschweinchen ganz in Parallele: in beiden Fällen entwickelt sich spezifische Ueberempfindlichkeit gegen das zur Vorbehandlung benützte Serum, und in beiden Fällen ist es das Reaktionsprodukt aus dem Serum und den gebildeten Antikörpern, das giftig wirkt und den typischen Symptomenkomplex herbeiführt.

Wir sind demnach in der Lage, das Wesen der Serumerscheinungen im Meerschweinchenversuch zu studieren und durchaus berechtigt, die dabei gewonnenen Ergebnisse auf die Verhältnisse beim Menschen glatt zu übertragen.

Die Antikörper, die sich an diesem Reaktionsprozess beteiligen, bezeichneten v. Pirquet und Schick als „vitale Antikörper“, ohne über ihre Natur irgend etwas auszusagen. Nur darüber äussern sich diese Autoren mit Nachdruck, dass ihr „vitaler Antikörper“ der Serumreaktion weder mit Antitoxinen noch mit Präzipitinen irgend etwas zu tun habe.

Konkretere Vorstellungen über die an der serumanaphylaktischen Reaktion beteiligten Stoffe brachte erst die jüngste Zeit, und zwar waren es insbesondere Dörr und Russ, sowie Friedberger, die sich mit dieser speziellen Frage in sehr eingehender Weise beschäftigten. In geschlossenen Versuchsreihen gelang es Dörr und Russ zu zeigen, dass der in Rede stehende Antikörper identisch ist mit dem Präzipitin. Dafür spricht ganz besonders der Umstand, dass stark präzipitinhaltige Sera reich, schwach präzipitinhaltige Sera im allgemeinen arm an anaphylaktischen Antikörpern (Reaktionskörpern) waren.

Auch bei einem und demselben Versuchstier liess sich beweisen, dass mit fortschreitender Vorbehandlung Präzipitin und anaphylaktischer Reaktionskörper gleichmässig zu- und gleichmässig abnahmen.

Die Ursache der Serumkrankheit liegt also in der Verbindung des Serums mit seinem Präzipitin. Das toxische Prinzip wird durch diese Verbindung in Freiheit gesetzt.

Damit wäre eine schon im Jahre 1903 von Hamburger und Moro ausgesprochene Annahme bestätigt, wonach „die Vereinigung von Präzipitin und präzipitabler Substanz, die in vivo anders erfolgt als in vitro, in einem ursächlichen Zusammenhang mit dem Serumexanthem stehen".

Eine noch weitere Klärung brachten die Versuche von Friedberger. Friedberger und Hartoch, früher Francioni und

Sleeswijk fanden, dass während der akuten Reaktionserscheinungen nach der Reinjektion eine plötzliche Komplementverarmung, ein förmlicher Komplementsturz im Blut zu verzeichnen war, und schlossen daraus, dass auch das Komplement an der sich abspielenden Reaktion zwischen artfremdem Serum (als Antigen) und den Präzipitinen Anteil nimmt, ein im übrigen nicht so merkwürdiger Befund, da wir ja von den Reagenzglasversuchen her wissen, dass bei der Vereinigung von präzipitogenem Antigen und Präzipitin in einem komplementhaltigen Medium auch in vitro freies Komplement schwindet, indem es an die neu entstandene Verbindung verankert wird.

Die wichtige Frage war nun die, ob es sich hier bei der anaphylaktischen Reaktion nur um eine zufällige und gleichgültige Komplementbindung handelt, oder ob das Komplement selbst zum Zustandekommen der vitalen Reaktion notwendig ist. Der nächstliegende Weg zur Entscheidung dieser Frage war der, die Reaktion unter Verhältnissen vorzunehmen, die die Komplementbindung verhindern.

Friedberger und Hartoch suchten nun zu ermitteln, ob Faktoren, die eine Komplementverankerung zu verhüten vermögen, auch befähigt sind, die anaphylaktische Reaktion hintanzuhalten. Nach Ehrlich und Sachs, Nolf und Markel bleibt die Komplementbindung in vitro aus, wenn der Salzgehalt des Mediums den isotonischen überschreitet. Friedberger und Hartoch mach-

ten sich nun diese Beobachtung zu nutze und ahmten diese Verhältnisse im Meerschweinchenversuch nach, indem sie durch grosse Kochsalzmengen eine vorübergehende Hypertonie des Blutes herbeiführten. Sie konnten nun zeigen, dass bei den so behandelten „Salztieren" mit dem Ausbleiben der Komplementbindung gar keine anaphylaktischen Symptome nach der Reinjektion auftraten. Sie betrachten daher wie Dörr und Moldovan, Scott und andere, die zu den gleichen Ergebnissen gelangten, den intravaskulären Komplementschwund als ein für die anaphylaktische Reaktion wesentliches Symptom.

In weiterer Verfolgung dieser experimentellen Befunde stellte sich Friedberger vor, dass das Komplement, dem ja schon seit Buchner fermentativer Charakter zugesprochen wird, aus der Verbindung: Serumeiweiss—Präzipitin (spezifisches Präzipitat) das eigentliche Gift („anaphylaktisches Gift" nach Friedemann) in Freiheit setzt. Die experimentelle Ergründung dieses Gedankenganges suchte Friedberger auf folgende Weise vorzunehmen. Er brachte in vitro genuines Serumeiweiss und das entsprechende spezifische präzipitierende Antiserum vom Kaninchen zusammen. Das entstandene Präzipitat wurde abzentrifugiert, mehrmals gewaschen und mit einer grösseren Menge frischen Meerschweinchenserums geschüttelt. Hierauf wurde von dem spezifischen Niederschlag quantitativ abzentrifugiert und das reine der-

massen präparierte Meerschweinchenserum der gleichen Tierart, also wiederum Meerschweinchen, intravenös injiziert. Bei dieser Versuchsanordnung an dem mit einer einmaligen Injektion bedachten normalen Meerschweinchen sah man die gleichen Symptome wie beim üblichen anaphylaktischen Grundversuch. Viele von diesen Tieren gingen sogar unter den typischen Vergiftungserscheinungen akut zugrunde. Da nun diese Tiere nichts anderes erhielten als eine gewisse Quantität homologen Serums, das mit spezifischen Präzipitaten eine Zeitlang in Verbindung war, so konnte daraus geschlossen werden, dass aus dem Präzipitat in das Meerschweinchenserum der giftige Stoff der anaphylaktischen Reaktion übergegangen war. Und da Kontrollversuche zeigten, dass das mit den Präzipitaten in Berührung gestandene Meerschweinchenserum auf Meerschweinchen nur dann anaphylaktisch giftig wirkt, wenn es frisch, d. h. komplementhaltig war, und vollkommen unwirksam war, wenn man statt aktivem, inaktives Meerschweinchenserum in gleicher Weise zu den Versuchen heranzog, so zeigt sich auch auf diesem Wege mit Sicherheit, dass es eben das Komplement war, unter dessen Mithilfe aus den Präzipitaten die giftige Substanz ausgezogen wurde.

Den auf diese Weise gewonnenen giftigen Stoff nannte Friedberger das Anaphylatoxin und erblickte darin das toxische Grundprinzip der ganzen serumanaphylaktischen Reaktion.

Im Hinblick darauf, dass die Ueberempfindlichkeit tuberkuloseinfizierter Individuen gegenüber dem Tuberkelbazillus und seinen Derivaten (besonders gegenüber dem Tuberkulin) in ihrem Wesen fast allgemein mit der Serumüberempfindlichkeit seruminjizierter Tiere in Parallele gestellt wird, suchte ich auf Anregung von Herrn Oberarzt Dr. Moro die Frage, ob auch hier ein Anaphylatoxin im Sinne Friedbergers wirksam ist, näher zu treten. Die prinzipiellen Aehnlichkeiten der Tuberkulinreaktion mit der Serumreaktion sind ja bekanntlich sehr weitgehende:

1. Beide Ueberempfindlichkeitsformen beruhen auf der Gegenwart und Aktion spezifischer Antikörper.

2. Die Inkubation der Tuberkulinüberempfindlichkeit nach der Tuberkuloseinfektion stimmt zeitlich ungefähr mit der Latenz der Serumanaphylaxie überein.

3. Der serumanaphylaktische Zustand lässt sich mit dem Blutserum der überempfindlichen Tiere auf normale Tiere übertragen. Nach den Versuchen von Helmholz soll es bei normalen Meerschweinchen gelingen, auch eine passive Tuberkulinüberempfindlichkeit zu erzeugen.

4. Uebersteht das serumanaphylaktische Tier nach einer Antigenreinjektion den anaphylaktischen Shok, so erweist es sich gegenüber weiteren Injektionen des gleichen Antigens vollständig unempfindlich. Besredka und Steinhardt bezeichneten diesen Zu-

stand mit dem Namen der Antianaphylaxie. Antianaphylaktisch wird aber das Versuchstier jedesmal, sobald man den anaphylaktischen Reaktionskörper, also in diesem Falle das Präzipitin mit dem entsprechenden Antigen absättigt.

Ganz ähnliches sehen wir auch bei der Tuberkulinüberempfindlichkeit.

Tuberkulintherapeuten ist es schon lange bekannt, dass nach langdauernden, systematisch durchgeführten Tuberkulinkuren oder aber nach einer massiven Tuberkulininjektion die Ueberempfindlichkeit gegenüber dem Tuberkulin auf lange Zeit zum Schwinden gebracht werden kann. Nichts spricht dagegen und alles dafür, diese künstlich herbeigeführte Reaktionsunfähigkeit (Hamburger) als Antianaphylaxie anzusprechen.

5. Die subkutane Tuberkulinreaktion beim Menschen hat mit der Serumkrankheit nach einer Reinjektion gemeinschaftliche klinische Züge. Auch hier treten Fieber, mitunter allgemeine Exantheme auf. Insbesondere aber ist die Lokalreaktion am Orte der Tuberkulineinspritzung, die sogenannte Stich- und Depotreaktion, die im Aussehen und Verlauf dem sogenannten „entzündlichen Oedem“ am Ort der Seruminjektion wesentlich an die Seite zu stellen sein dürfte.

6. Auch bezüglich der Leukozytenschwankungen finden sich in beiden Fällen analoge Verhältnisse, indem sowohl gelegentlich positiver Tuberkulininjektionen als auch knapp

nach der Seruminjektion eine rapide Abnahme der Leukozytenzahl — eine vorübergehende Leukopenie — eintritt.

Die obige Fragestellung war demnach eine durchaus berechtigte. Freilich war die Versuchsanordnung hier mit grösseren Schwierigkeiten verbunden als bei den Friedbergerschen Serum-Antiserum-Experimenten. Zunächst musste man in den Besitz eines spezifischen Tuberkulosepräzipitates gelangen. Um präzipitinhaltige Sera zu gewinnen, ging ich zunächst so vor, dass ich normale Kaninchen zu wiederholtenmalen mit Tuberkuloseantigen behandelte. Und zwar injizierte ich einem Kaninchen, 1850 g schwer, am 16. IV. 10 intravenös 0,5 Koch'sches Alttuberkulin-Höchst. Am 19., 22. und 23. IV. wurde je 1 ccm Tuberkulin, stets intravenös, injiziert und am 29. IV. 2 ccm, ebenfalls intravenös. Am 6. V. Entnahme von ca. 8 ccm Serum aus der Ohrvene.

Einem zweiten Kaninchen, 2000 g schwer, wurden intraperitoneal am 19. IV. 01 1 ccm abgetöteter, aufgeschwemmter Tuberkelbazillen*) einverleibt. Im Abstand von 3 Tagen wurden erst 1 ccm, dann zweimal 5 ccm dieser Aufschwemmung intraperitoneal injiziert. Am 7. V. 10 erfolgte die Blutentnahme und zur Prüfung beider Sera auf

*) Fein zerriebene und in physiologischer Kochsalzlösung emulgierte Kahmhaut einer ca. 6 Wochen alten Tuberkelbazillen-Bouillonkultur vom Typus humanus aus dem Kgl. Hygienischen Institut München, durch 4 Stunden auf 56° C erhitzt.

Präzipitine wurden folgende Versuche vorgenommen:

Es wurden Verdünnungen des Tuberkulins hergestellt: 1:1, 1:10, 1:50, 1:100. Daraus wurde je 0,1 ccm entnommen und mit je 0,1 ccm Serum überschichtet. Dazu wurden entsprechende Kontrollen angesetzt.

Die Reihe wurde erst eine halbe Stunde in den Brutschrank gestellt, um zu sehen, ob sich an der Berührungsstelle ein Präzipitatring gebildet hatte. Es war nicht der Fall. Darauf wurden die Röhrchen geschüttelt und für weitere 2 Stunden in den Brutschrank gestellt. Die Nacht über blieben sie bei Zimmertemperatur stehen. Es war keine Spur von Präzipitatbildung sichtbar.

Diese beiden Versuche verliefen demnach vollkommen negativ, und es war wenig Hoffnung vorhanden, auf dem begangenen Weg vorwärts zu kommen. Eher durfte erwartet werden, dass man in dieser Richtung mit einem antituberkulinhaltigen (Sera, die in vitro mit Tuberkulin zusammengebracht Komplement binden) Serum vom Menschen zum Ziele gelangt. Herr Dr. J. Bauer, Assistenzarzt an der Kinderklinik der Akad. für praktische Medizin in Düsseldorf, hatte die grosse Liebenswürdigkeit uns ein derartiges, auf dem Wege systematischer Tuberkulininjektionen präpariertes Serum eines skrofulösen Kindes zur Verfügung zu stellen. Der Titer des Serums war 1:200, d. h. das Serum hemmte noch bei einer Verdünnung des Tuberkulins (Antigen)

1:200 die Hämolyse. Mit diesem Serum stellten wir nun in gleicher Weise wie oben den Präzipitatversuch an, indem wir je 0,1 ccm Serum Bauer mit abgestuften Tuberkulinverdünnungen in Berührung brachten. Allein auch hier war das Resultat ein negatives. Ein deutlicher Ring (Niederschlagsbildung) an der Berührungsstelle trat nicht auf.

Hingegen erhielt ich sehr deutliche Präzipitate, wenn ich mich anstatt des Tuberkulins als Antigen einer von C. Merk, Darmstadt, hergestellten und mir zum Versuche in generöser Weise kostenfrei überlassenen Testflüssigkeit bediente, die in folgender Weise zubereitet war: Zerriebene Tuberkelbazillen werden mit Wasser extrahiert und nachträglich durch Papierfilter und Berkefeldkerze filtriert. Die Flüssigkeit wird so eingestellt, dass in 1 ccm genau 1 mgr lösliche Bazillensubstanz enthalten ist. Die Lösung muss vollkommen klar sein. — Typische Ringbildung bei der Unterschichtung mit den Verdünnungen des Serums. Herstellung: 0,5 g zerriebene Tuberkelbazillen werden mit 10 ccm Wasser zusammengebracht, man lässt 24 Stunden im Schüttelapparat, zentrifugiert scharf ab und filtriert in oben angegebener Weise. An der Berührungsstelle trat eine ringförmige Trübung auf, also ein deutlicher Niederschlag. Auf diese Weise gelangte ich nun zu einem ziemlich reichlichen Präzipitat, womit die Grundbedingung zum eigentlichen Versuch gegeben war.

Die Versuchsanordnung, die sich tunlichst

an das von Friedberger angegebene Verfahren hielt, war folgende:

2,8 ccm Tuberkulinantiserum und 4,2 ccm Testflüssigkeit wurden gemischt und 1 Stunde in den Brutschrank gestellt, dann 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen, darauf im Frigo aufbewahrt. Das Präzipitat wird zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und zentrifugiert. Zu dem so gewaschenen Präzipitat kamen 11 ccm frisches Meerschweinchenserum (als Komplement), und das Gemisch blieb einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Darauf wurde wieder zentrifugiert und das Meerschweinchenserum abgegossen. Mit dem so behandelten Meerschweinchenserum wurden 2 normale Meerschweinchen intravenös injiziert, und zwar erhielt das eine 2,3 ccm Serum, das andere 3 ccm. Die Tiere zeigten gar keine Krankheitserscheinungen, blieben auch beide am Leben.

Meerschweinchen A:	Meerschweinchen B:
Temperatur vor Injektion 37,3.	Temperatur vor Injektion 38,1.
11^h 37′ intrav. Injektion von 3 ccm Serum. Tier vollständig munter, läuft herum, putzt sich.	11^h 53′ intrav. Injektion von 2,3 ccm Serum. Tier bleibt vollkommen frisch und munter.
11^h 40′ Temp. 36,8.	11^h 57′ Temp. 37,5.
12^h Tier sehr frisch, bleibt am Leben.	Bleibt am Leben.

Die beiden Versuche verliefen demnach negativ. Unsere Frage, ob aus der spezifischen

Verbindung von Tuberkuloseantigen und dem entsprechenden Präzipitin durch Komplementwirkung Anaphylatoxin in Freiheit gesetzt und so gewonnen werden kann, musste vorläufig in verneinendem Sinne beantwortet werden.

Weitere Versuchsreihen beschäftigten sich damit, zu eruieren, ob die Bestandteile des Präzipitates bezw. das zu den obigen Anaphylatoxinversuchen verwendete Meerschweinchenserum auf der menschlichen Haut irgendwelche klinisch wahrnehmbaren Erscheinungen hervorruft.

Nach der Vorstellung von Wolff-Eisner und v. Pirquet über das Wesen der Tuberkulinreaktion hätte bei dieser Versuchsanordnung ein positives Ergebnis immerhin erwartet werden können. Beide Autoren nehmen unabhängig voneinander an, dass die Tuberkulinhautreaktion beim tuberkuloseinfizierten Menschen dadurch zustande kommt, dass bestimmte lytische oder anderswie mit Verdauungsorganen ausgestattete Antikörper, in deren Besitz eben der tuberkuloseinfizierte Mensch ist, das in die Haut eingetragene Tuberkulin angreifen und daraus giftige Stoffe (vom Charakter der Endotoxine Wolff-Eisner) freimachen, die die lokale Entzündung hervorrufen. Nach Versuchen von Moro und Noda aus dem Jahre 1909 war allerdings wenig Hoffnung vorhanden, hier zu einem positiven Ergebnis zu gelangen. Sind im Serum von Menschen, die eine stark positive Kutanreaktion geben, die entsprechenden Antikörper

im Blut vorhanden, so müsste ein solches Serum, wenn es in vitro durch mehrere Stunden bei 38° C gehalten wird, mit Tuberkulin gemischt, das zugesetzte Tuberkulin derart aufschliessen oder verändern, dass kutane Impfungen mit diesem Gemisch auch beim normalen, nicht tuberkuloseinfizierten Menschen kleine Hautentzündungen hervorrufen. Solche Versuche haben Moro und Noda unter vielfachen Variationen bei verschiedenen Kindern vorgenommen, jedoch sämtliche mit negativem oder wenigstens nicht eindeutigem Resultat.

Die gleichen negativen Ergebnisse zeigten auch meine Versuche, die sich mit der Verimpfung von Präzipitaten und dem anaphylatoxinhaltigen (?) Meerschweinchenserum auf die Haut von normalen, tuberkulinnegativen Kindern beschäftigten. Ich impfte nach Art der v. Pirquetschen Tuberkulinprobe: in der Mitte die Kontrolle, oben das Präzipitat, unten das Meerschweinchenserum. Die Impfstellen unterschieden sich in keiner Weise von den Kontrollbohrungen. Die Versuche verliefen vollkommen negativ.

Selbst bei tuberkulinpositiven Individuen hatten wir weder mit Anaphylatoxin- noch mit Präzipitatimpfungen jemals Plusreaktion gegeben.

Es wurden folgende Kinder geimpft:

Georg Wallner, $6^1/_2$ Jahre, † an Hirntuberkel; positiver v. Pirquet.

Franz Wozinsky, 11 Jahre, offene Lungentuberkulose; positiver v. Pirquet.

Hans Schwegler, 9 Jahre, tuberkulöse Drüsengranulomatose; positiver v. Pirquet.

Josef Raila, 10 Jahre, Polyarthritis rheumatica; negativer v. Pirquet.

Friedrich Walter, 5 Jahre, Nephritis scarlatinosa; negativer v. Pirquet.

Sie wurden geimpft am 22. V. 4,30 Uhr p. m. Es war weder sofort noch nach einer halben Stunde, noch nach 2 Stunden, noch nach 24 Stunden etwas zu sehen.

In den vorgeführten Versuchsreihen gelang es also nicht, den Nachweis zu erbringen, dass sich in vitro analog der Serumreaktion aus den spezifischen Präzipitaten (also aus der Verbindung von Tuberkuloseantigen und entsprechendem Tuberkulosepräzipitin) anaphylaktisches Gift darstellen lässt.

In diesem wichtigen Punkte scheint demnach ein prinzipieller Unterschied zwischen Serumanaphylaxie und der Tuberkulinüberempfindlichkeit gelegen zu sein. Vielleicht ist dieser Befund damit zu erklären, dass die Tuberkulinüberempfindlichkeit im Gegensatz zur Serumanaphylaxie, die zweifellos an im Blute kreisende Stoffe gebunden ist, im wesentlichen einen zellulären Zustand darstellt.

Damit würden auch die vielen missglückten Versuche, die Tuberkulinüberempfindlichkeit mit dem Serum tuberkuloseinfizierter Tiere auf normale zu übertragen, gut übereinstimmen. Denn die vorhin sub 3 angeführten Versuche von Helmholz, die unter vielen negativen Experimenten anderer Autoren die

einzig positiven waren, sind inzwischen nicht unwidersprochen geblieben.

Mit Rücksicht auf diese negativen Ergebnisse bei der Tuberkulinüberempfindlichkeit ging ich daran, den früher angeführten Friedbergerschen Versuch bei strenger Befolgung der von ihm gegebenen Kautelen nachzuprüfen.

Friedberger gab keine einheitliche Versuchsanordnung an. Die besten Resultate hatte er bei folgendem Vorgehen:

Friedbergerscher Versuch (Versuch 9):

6,6 ccm Serum des Kaninchens Nr. 40 (Antihammel-Kaninchenserum) + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung + 2,5 ccm normales Hammelserum kommen eine Stunde in 37° C und bleiben dann über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Das durch Zentrifugieren gewonnene Präzipitat wird zweimal mit grossen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und zentrifugiert. Zu dem Bodensatz kommen 11 ccm Komplement = frisches Meerschweinchenserum. Das Gemisch bleibt über Nacht bei Zimmertemperatur stehen und wird dann zentrifugiert. Mit diesem Serumabguss werden 3 Meerschweinchen injiziert. — Ich will von den 3 Versuchen den am günstigsten verlaufenen bringen:

Meerschweinchen 272,200 g, erhält 3 ccm Serumabguss.

5 U. 33 M.: Injektion; Temp. vorher 38,0° C. Sofort nachdem das Tier abgespannt, be-

ginnen typische hohe Sprünge u. Krämpfe. Das Tier wirft sich auf die Seite.
5 U. 35 M.: Vereinzelte tiefe agonale Atemzüge. Abgang von Urin.
5 U. 37 M.: Reflexe erloschen, Tod.

EIGENE VERSUCHE.

Benützt wird Serum von einem Kaninchen, das mit Rinderserum sensibilisiert wurde in folgender Weise:

Silberkaninchen, 1600 g schwer, erhält vom 19.—26. VI. in 2 tägigen Intervallen intravenös je 1 ccm inaktiviertes Rinderserum. Das Serum gibt noch einen Präzipitatring in einer Verdünnung von 1:1000. Dieses Serum benützte ich zum Versuch 1. Das Kaninchen wurde dann noch weiter behandelt mit 3 Injektionen. In Intervallen von 3 Tagen erhielt es wieder je 1 ccm inaktiviertes Rinderserum. Entblutet 7. VI. 10. Jetzt präzipitierte es noch in einer Verdünnung von 1:5000, und dieses Serum benützte ich zu Versuch 2 und 3.

Versuch 1.

6 ccm Anti-Rinder-Kaninchen-Serum + 6 ccm Zehntelrinderserum. 2 Stunden im Brutschrank. Geringes Präzipitat. Dann bleibt es 20 Stunden im Frigo, wird zentrifugiert und 2 mal mit grossen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Darauf wird wieder zentrifugiert und 6 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt. Das Gemisch

bleibt 5 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, dann wird abzentrifugiert und von dem Serum wird einem Meerschweinchen intravenös 2,3 ccm Meerschweinchenserum injiziert.

Temperatur vor der Injektion 37,0° C.

4 U. 19 M. p. m.: Injektion. Tier sofort schwer krank, zittert, schreit, macht Sprünge nach rückwärts, friert sichtlich.

4 U. 25 M.: Temperatur 35,7° C. Tier immer noch krank.

4 U. 40 M.: Tier zittert noch, ist aber sonst munter und läuft herum.

4 U. 50 M.: Temperatur 37,6° C.

5 U.: Temperatur 35,0° C. Seit der letzten Messung sitzt das Tier schwer krank und teilnahmslos an einem Fleck und atmet schwer. Sträubt die Haare.

5 U. 30 M.: Parese der Hinterbeine.

Stirbt in der Nacht.

Versuch 2.

6,6 ccm Anti-Rinder-Kaninchen-Serum + 2,5 ccm Rinderserum + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung. 1 Stunde im Brutschrank. Dann über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Starkes Präzipitat. Weitere Behandlung wie oben. Zum Präzipitat kommen 11 ccm frisches Meerschweinchenserum und das Gemisch bleibt 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Dann wird abzentrifugiert, und das Serum wird folgendermassen verwendet:

Meerschweinchen A, 210 g, erhält:

6 U. 40 M. p. m.: Intravenöse Injektion von 2 ccm Serum. Temp. vor der Injektion 37,4.
6 U. 43 M.: Tier sträubt das Fell, auf die Seite gelegt, kann es sich nicht erheben. Starke Krämpfe.
6 U. 45 M.: Tier wirft sich auf die Seite, noch einzelne Zuckungen.
6 U. 46 M.: Hinten gelähmt.
6 U. 49 M.: Tier scheint sich wieder zu erholen. Richtet sich auf, zieht die Beine an.
6 U. 54 M.: Läuft herum, bewegt sich unruhig, macht aber immer noch einen schwerkranken Eindruck.
6 U. 56 M.: Atmet schwer, lässt den Kopf auf die Seite sinken.
6 U. 59 M.: Temperatur 33,8° C.
7 U. 15 M.: Tier noch krank.
Bleibt am Leben.

Meerschweinchen B, 210 g, erhält:

6 U. 55 M.: Intravenöse Injektion von 3 ccm M.-S. Temperatur vor der Injektion 37,2° C.
6 U. 57 M.: Sträubt das Fell, bewegt sich nach rückwärts. Atmung frequent und heftig.
7 U.: Schwer krank, wehrt sich aber heftig bei dem Versuch, es auf den Rücken zu legen und gelangt sofort wieder auf die Beine.
7 U. 3 M.: Temperatur 33,5° C.
7 U. 12 M.: Tier wird munterer läuft herum.
7 U. 18 M.: Tier noch krank.
Bleibt jedoch am Leben.

Die Nachprüfung des Friedbergerschen Versuches mit hochpräzipitierenden Rinderseris führte demnach zu positiven Ergebnissen. Zwar trat bei keinem der Tiere trotz Verwendung von relativ grossen Komplementmengen der Tod ein, immerhin waren aber die Erscheinungen nach der Injektion so typisch, dass an ihrem anaphylaktischen Charakter nicht gezweifelt werden konnte. Besonders gilt dies für den anaphylaktischen Temperatursturz, der in allen drei Fällen sehr ausgesprochen war. Somit scheint darüber kein Zweifel zu sein, dass der Annahme Friedbergers zufolge bei dieser Versuchsanordnung anaphylaktisches Gift (Anaphylatoxin) in das mit dem Rinderserumpräzipitat in Kontakt gestandene frische Meerschweinchenserum übergegangen war.

Analog früheren Tuberkuloseversuchen ging ich nun daran, die spezifischen Rinderpräzipitate und das anaphylatoxinhaltige Meerschweinchenserum an normale Individuen kutan zu verimpfen. Indes blieb auch dieser Versuch negativ.

Im Hinblick darauf, dass Individuen mit positiver Tuberkulinreaktion im allgemeinen eine höhere vasomotorische Erregbarkeit ihrer Haut zu haben pflegen, verwendeten wir ausschliesslich einschlägige Fälle:

Georg Wallner, $6^1/_2$ Jahre, † an Hirntub.
Franz Wozinsky, 11 Jahre, off. Lungentub.
Paul Stölzer, 10 Jahre, Lungentub.
Josef Stauber, 3 Jahre, Skrofulose.

Es wurde wie in oben angegebener Weise geimpft. In der Mitte die Kontrolle, oben das Präzipitat, unten das anaphylatoxinhaltige (?) Meerschweinchenserum. Es war weder sofort noch nach irgend einer Zeit eine Spur von Reaktion zu bemerken.

In weiterer Verfolgung der Friedbergerschen Anaphylatoxinversuche prüfte ich bei gleicher Anordnung noch ein Laktoserum und ein Antihühnereiweisserum. Das Laktoserum wurde folgendermassen hergestellt: Kaninchen Nr. 13, 1650 g schwer, erhielt 4 mal in Abständen von je 3 Tagen Injektionen von ungekochter, durch Zentrifugieren entfetteter Milch subkutan (14.—24. V.). Am 31. V. wurde das Kaninchen entblutet.

Das Laktoserum präzipitiert die Kuhmilch noch in einer Verdünnung von 1 : 4000. Es war das hochwertigste Laktoserum, das jemals zur Beobachtung gelangte.

Das Antihühnereiweisserum, das in ganz analoger Weise hergestellt wurde, nur dass statt 4, 5 Injektionen gemacht wurden, präzipitierte Eiereiweiss noch bei Verdünnungen 1 : 1 000 000.

Die Mischung der Milch bezw .des Hühnereiweisses mit den entsprechenden Seris ergab sehr reichliche, massige Präzipitate. Das Ausgangsmaterial zu den Anaphylatoxinversuchen war demnach ein äusserst günstiges.

Versuch.

6,6 ccm Antimilchserum + 2,5 ccm entfettete Milch + 6 ccm physiologischer Kochsalzlösung. 1 Stunde in den Brutschrank, dann über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Bodensatz wird in der üblichen Weise gewaschen und zentrifugiert. Dazu kommen 11 ccm Meerschweinchenkomplement und das Gemisch bleibt über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Am nächsten Tag wird zentrifugiert und das Serum abgegossen.

Am 3. VI. werden mit dem Serum 2 Meerschweinchen injiziert.

Meerschweinchen A, 370 g, erhält:

12 U. 35 M.: Intravenös 3 ccm M.-S. Temperatur vorher 37,5° C.

12 U. 38 M.: Tier ist vollständig munter, putzt sich.

12 U. 45 M.: Temperatur 36,4° C. Tier schnuppert, läuft herum, bietet nichts Besonderes.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen B, 380 g, erhält:

12 U. 52 M.: 2,4 ccm Serum intravenös. Temp. vorher 37,1° C.

1 U.: Tier ist vollständig munter, läuft herum, frisst. Temp. 36,5° C.

Bleibt am Leben.

Versuch mit dem Hühnereiweiss-anaphylatoxin.

6 ccm Anti-Hühnereiweiss-Kaninchenserum + 2,5 ccm Hühnereiweiss + 3,6 ccm physiologische Kochsalzlösung. Behandlung genau wie oben, nur wurde dieses Präzipitat nur einmal gewaschen.

Meerschweinchen A, 300 g, erhält:

6 U. 33 M. p. m.: Injektion von 3 ccm M.-S. Temp. vor der Injektion 37,0° C.
6 U. 40 M.: Tier scheint vollständig gesund zu sein, läuft umher.
6 U. 42 M.: Temp. 35,5° C.
6 U. 44 M.: Tier munter.
6 U. 45 M.: Tier munter.
Bleibt am Leben.

Meerschweinchen B, 310 g.

Temperatur vor der Injektion 37,5° C. Die Injektion zog sich über 20 Minuten hin wegen Enge der Jugularis. Die Hälfte musste schliesslich in die Carotis injiziert werden.
7 U. 15 M. p. m.: Beendigung der Injektion von 3,7 ccm M.-S. Tier etwas betäubt durch die lange Aufspannung, erholt sich allmählich.
7 U. 20 M.: Tier läuft herum, schnuppert.
7 U. 30 M.: Temp. 34,0° C.
Bleibt am Leben.

Der Laktoserum- sowie der Hühnereiweissversuch verliefen demnach beide vollständig negativ. Bei 3 Tieren war überhaupt nichts

Abnormes nach der Injektion zu bemerken, von anaphylaktischen Symptomen konnte nicht die Rede sein. Die Temperaturabnahme darf darauf zurückzuführen sein, dass die Tiere zur intravenösen Injektion längere Zeit, ca. 8—10 Minuten, ausgespannt waren. Bei solchem Vorgehen notiert man nach H. Pfeiffer auch bei Normaltieren ohne Injektion oder aber nach einer Einspritzung von physiologischer Kochsalzlösung ziemlich beträchtliche Temperaturstürze.

Im Gegensatz zu den Antirinderserumpräzipitaten erwiesen sich demnach Laktoserum bezw. Hühnereiweisspräzipitate als gar nicht giftig. Worauf diese Differenz zurückzuführen ist, kann vorläufig nicht entschieden werden.

SCHLUSSAETZE.

1. Mischt man frisches Meerschweinchenserum mit spezifischen Präzipitaten, so gewinnt das von den Präzipitaten befreite Meerschweinchenserum für normale Meerschweinchen anaphylaktisch giftige Eigenschaften. Aus den Präzipitaten geht in das Meerschweinchenserum Anaphylatoxin über (Friedberger).

Meine Versuche ergeben in dieser Richtung das gleiche Resultat.

2. Behandelt man spezifische Tuberkulosepräzipitate (Verbindung von Tuberkuloseantigen mit präzipitierendem Antituberkulinserum), so lässt sich bei gleichem Vorgehen

wie oben kein anaphylaktisch wirksames Prinzip darstellen.

3. Aus dieser Differenz zwischen Serumanaphylaxie und Tuberkuloseüberempfindlichkeit wird der Schluss nahegelegt, dass das Substrat der Tuberkuloseüberempfindlichkeit im Gegensatz zur Serumanaphylaxie im wesentlichen an die Zellen gebunden ist.

4. Lakto-Serum- und Hühnereiweisspräzipitate erwiesen sich als vollständig unwirksam.

* * *

Meine Arbeit möchte ich schliessen mit dem verbindlichsten Dank an Herrn Geheimrat Prof. v. Bauer für die gütige Uebernahme des Referates, und weiter möchte ich Herrn Oberarzt Dr. Moro vielmals danken für die Anregung zu der Arbeit und für seine weitgehende Unterstützung bei der Ausführung derselben.